
総 説

栄養による宇宙での免疫機能維持

山 本 茂¹⁾, Anil D Kulkarni²⁾, 山 内 圭 子²⁾, Alamelu Sundaresan³⁾,
藤 原 敦 子¹⁾

¹⁾徳島大学医学部栄養学科実践栄養学講座

²⁾テキサス大学ヒューストン校ヘルスサイエンスセンター医学部外科学講座

³⁾ジョンソンスペースセンター

(平成14年10月21日受付)

(平成14年10月24日受理)

1. はじめに

宇宙飛行では免疫機能が低下するが、感染症予防のために常時抗生物質を利用することは望ましくない。食物や食物成分によって免疫増強を行うことができれば都合である。グルタミンやアルギニンは、強い免疫増強作用をもつことが知られており、術後栄養剤としても利用されている。我々は、グルタミンやアルギニンの免疫増強作用をはじめ細胞増殖作用、腸粘膜の修復作用、老化による脳機能低下予防などの生理機能について研究を行ってきた。そしてヌクレオチドが同様の機能をはるかに少量で発揮することを見出した。その理由として、グルタミンやアルギニンを投与することにより、ヌクレオチドの合成が高まるためであることが挙げられる。ヌクレオチドはグルタミンやアルギニンよりも物質的に安定で、味もよいことから、今後多くの有効利用法が開発されてくると期待される。もちろん、痛風が起こるような過剰摂取は避けなければならないが、グルタミンやアルギニンが有効に使用されている多くの場合、はるかに少量のヌクレオチドで置き換えることができている。

本稿では、ヌクレオチドの免疫増強を中心とした生理機能を明らかにするため、1. グルタミン、アルギニンおよびヌクレオチドの腸上皮細胞増殖に及ぼす効果比較、2. ヌクレオチドの免疫機能上の役割、3. ヌクレオチドによる微小重力環境下での免疫力低下の予防、について概説する。

2. グルタミン、アルギニンおよびヌクレオチドの効果比較

グルタミンやアルギニンは、腸疾患の改善¹⁾⁶⁾、免疫機能の亢進⁷⁾¹⁴⁾など多彩な生理機能が注目されている。ヌクレオチドも腸機能¹⁵⁾¹⁹⁾や免疫機能²⁰⁾²⁴⁾を高める。グルタミン、アルギニンおよびヌクレオチドは、好ましくない生理機能も似ている。例えばジニトロベンゼンスルホン酸によって起こされたラットの大腸炎は、ヌクレオチド²⁵⁾、アルギニン²⁶⁾、またはグルタミン²⁷⁾の投与によって悪化する。生理機能効果を示す量はヌクレオチドがグルタミンやアルギニンよりもかなり少ない³⁾¹³⁾²³⁾。グルタミンはアルギニンやヌクレオチドに窒素を供給するという代謝上の関連がある(図1)⁸⁾。このような情報を基に我々は、グルタミンの生理機能は窒素を供給してヌクレオチドの合成を高めて発揮されていること、アルギニンの生理機能はグルタミンからアルギニン合成の流れを節約しヌクレオチド合成を促進させることで発揮されているとの仮説をたてた。さらにグルタミンの生理機能はエネルギー源としてではないとの仮説をたてた。なぜなら、グルタミンがエネルギー源として効果があるならば、グルタミンはグルタミン酸になりエネルギーを生じるのであるからグルタミン酸にも効果があるはずであるからであり、またグルタミンとグルタミン酸ともに細胞内に取り込まれるためである。

これらの仮説を立証するために、本実験ではヌクレオチド合成能力の無い腸上皮細胞 *Caco-2* の増殖に対する、グルタミン、グルタミン酸、アルギニンおよびヌクレオチドの効果を調べた²⁹⁾。増殖は、ヌクレオチドでは8日

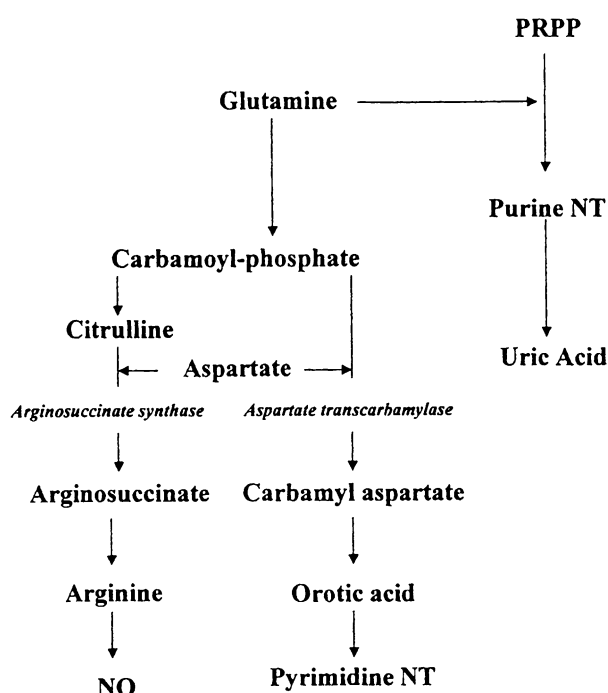


図1 グルタミン、アルギニン、ヌクレオチドの代謝関連図。
NO ; nitric oxide, NT ; nucleotide,
PRPP ; phosphoribosylpyrophosphate.

後、グルタミンでは12 & 16日後に有意に増加したが、グルタミン酸はどの濃度でも効果はなかった（図2）。16日目のデータのみで比較すると、ヌクレオチドでは0.006 mmol/Lで、グルタミンでは2 mmol/Lで最高値が観察された。すなわち、ヌクレオチドの効果はグルタミンの100分の1以下の濃度で発揮されることを示している。

培養ペトリ皿（75cm²）に[5-¹⁵N]グルタミンを含んだ培地にヌクレオチド（0.012, 0.12または1.2mmol/L）およびアルギニン（1.0, 2.0または4.0mmol/L）を加えた培地で、Caco-2細胞（2.6 × 10⁴ cells/cm²）を8日間培養した。DNA中のヌクレオチドを分離し、N濃度と¹⁵N濃度をN自動分析機および¹⁵N自動分析機で測定した。その結果、Caco-2細胞増殖に対するアルギニンの効果は、グルタミンが存在するときは明らかに見られたが、グルタミン無しでは見られなかった。また、ヌクレオチド合成に対するアルギニンとヌクレオチドの添加効果について、DNAのNへの¹⁵Nの取り込みはアルギニン添加で増加し、ヌクレオチド添加で低下した。この結果は、「アルギニンの生理的役割の1つはヌクレオチド合成の亢進を通して行われる」と解釈できよう。病院では、アルギニンはpHの高いという問題点にもかかわらず一般的によく使われている。もし我々の考えが受け入れられ

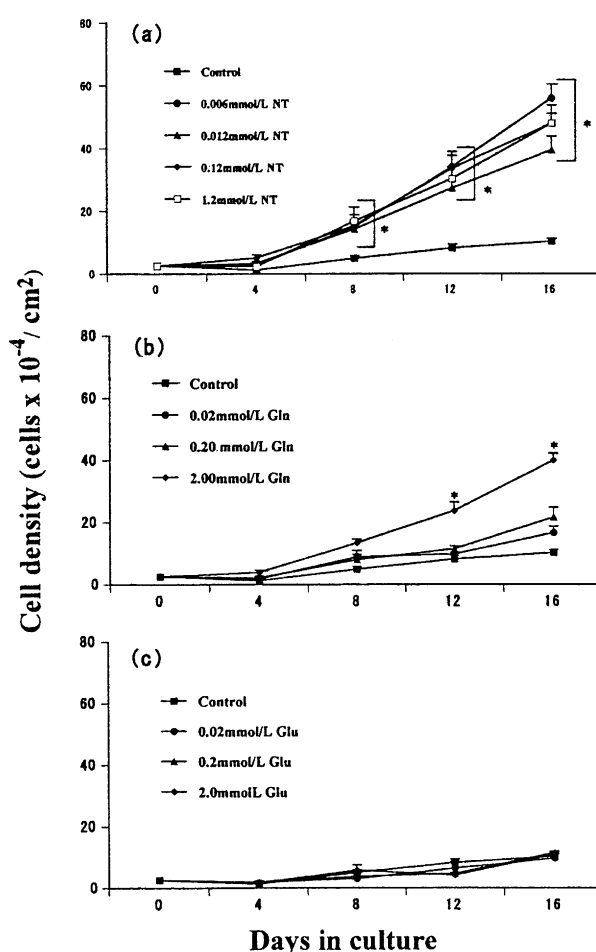


図2 Caco-2細胞増殖に対する(a)ヌクレオチド(NT),(b)グルタミン(Gln),(c)グルタミン酸(Glu)の効果。平均値 ± SE

れば、アルギニンに代わってヌクレオチドが利用されるであろう。

3. 食事中核酸の免疫機能上の役割

一般的に生体は、必要なヌクレオチドを新生でき、外因性（食事中）のヌクレオチドは必要ではないと考えられている。この考えは健康な人や動物を対象に行われた研究に基づくものである。しかしながら、最近の研究では、腸や免疫系のように代謝が活発な細胞や組織ではヌクレオチドの要求が多く、*de novo*系のみでの合成量では不十分で、供給をサルベージ系に依存していることが知られている。このようなことから、我々は「ヌクレオチドの要求量が高い感染時などにおいては、生体内で合成されたヌクレオチド量だけでは不十分で、食事からのヌ

クレオチドの供給が重要な働きを果たす」という仮説を立て、これを明らかにするためにいくつかの研究を行った^{30, 31)}。

免疫機能の低下した人にとって感染症は主要死因の一つであり、特にメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の感染は問題である。マウスによる本研究では、ヌクレオチドを投与することにより、MRSA に対する宿主の抵抗力が著しく増加することを示した (図3^{32, 33)}。免疫抑制剤を投与したマウスに MRSA を投与したときも

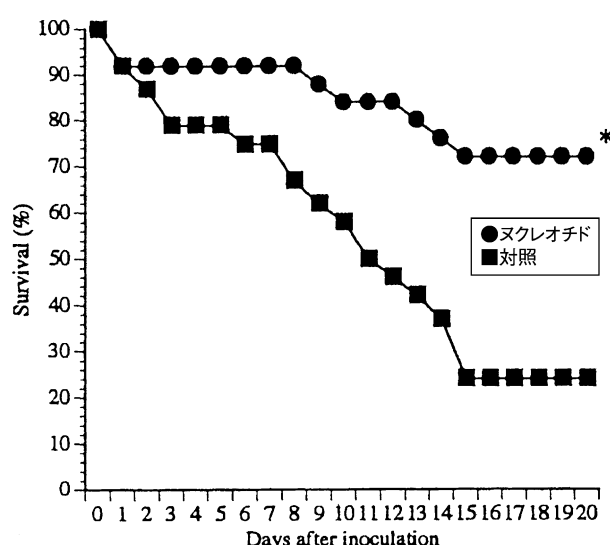


図3 ヌクレオチドを与えた BALB/c 雌マウスにメチシリン耐性黄色ブドウ球菌を感染後の生存率。ヌクレオチド群 (●) 25匹, 対照群 (■) 24匹, * $p < 0.01$

同様の効果を観察した³⁴⁾。また、食事にヌクレオチドを添加すると、遅延型過敏症反応や膝窩リンパ節の幼若化反応の亢進、脾臓細胞による IL-2 やインターフェロン γ の分泌が亢進した³⁵⁾。

骨髄細胞は *de novo* 系での塩基やヌクレオチドの合成能に限界がある。食事にヌクレオチドを添加することにより骨髄の増殖が刺激され、その結果として MRSA 投与マウスにおいて末梢好中球数が著しく増加し、生存率が高まった^{36, 37)}。

腸は栄養素の消化・吸収だけでなく、免疫機能においても重要な役割を担っており、生体に侵入した病原体に対する効果的な防御壁として機能している。食事性ヌクレオチドは、エンドトキシン の投与で腸粘膜を損傷したマウスの腸形態と機能を回復させ、細菌の生体内侵入を阻止する^{38, 39)} (図4)。

4. 無重力による免疫低下と栄養による改善

宇宙空間では免疫力が低下し、感染の危険性が高まる。我々は、上に述べたような経緯から、よく知られているグルタミンやアルギニンを食事に添加して免疫力を高めるよりも、ヌクレオチドで高めるほうが、量、安定性、味などの点から優れていると考えた。そこで、テキサス大学ヒューストン校ヘルスサイエンスセンター (UTHSCH) においてヌクレオチドを模擬宇宙環境において調べた⁴⁰⁾。

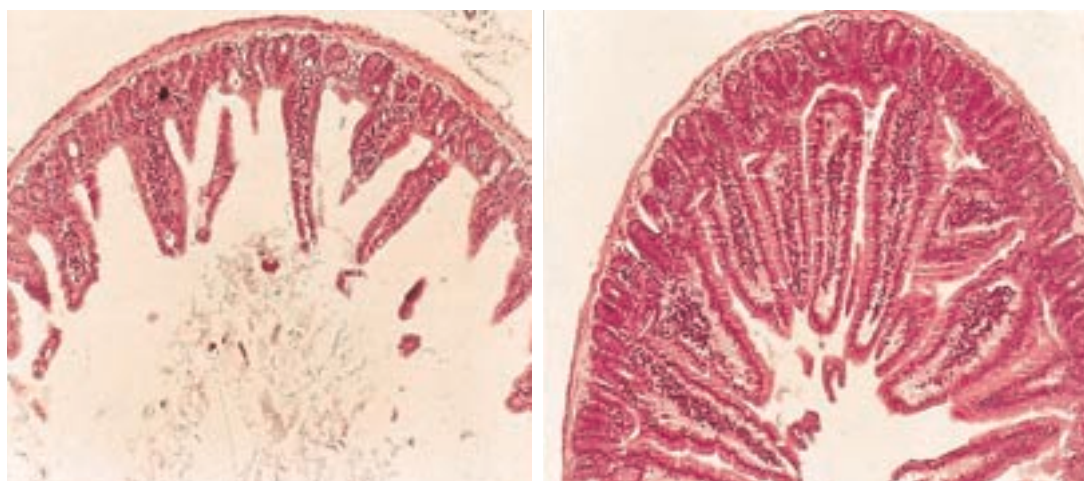


図4 写真左：腹腔内へエンドトキシン50 μ g を投与48h 後の蛋白質欠乏マウス回腸末端部；腸粘膜の萎縮が明白である。絨毛の長さ、陰窩部の奥行は共に衰退し、腸壁も薄くなっている ($\times 200$)。写真右：食事に0.5%のヌクレオチドを添加した場合。腸粘膜及び腸壁の状態が改善されている ($\times 200$)。



図5 尾部懸垂マウス

マウス後肢に体重がかからないよう 20～25°の角度でマウスの尻尾を吊るした。マウスの尻尾をつないだケーブルは、カゴ上方の滑車に取り付けられており、マウスは飼育カゴ内では 360°自由に動き回ることが可能である。(写真提供：Kulkarni, A.D.)



図6 巡回式細胞培養装置 (bioreactor)
(写真提供：Kulkarni, A.D.)

1) 尾部懸垂マウス (図5)

尾部懸垂により模擬無重力状態を作るためにマウスの後肢を懸垂した⁴¹⁾。マウスの後肢に50μlの同系、マウス脾細胞を、反対側の後肢には異系マウス脾細胞を注入し、7日後、膝窩リンパ節を摘出し、重量を測定した。また、脾細胞をPHAで刺激したときの脾細胞増殖を³H thymidineの取り込みで観察した。その結果、ヌクレオチドを添加した食事で飼育したマウスでは、リンパ球や脾細胞の増殖が高まった。

2) 巡回式細胞培養 (bioreactor-BIO) (図6)

巡回式細胞培養とは、細胞を巡回させながら模擬的な無重力状態をつくり細胞を培養することである。この方法で培養したリンパ球増殖反応は通常の状態での培養に比べて低下するが、培地にヌクレオチドを添加すると低下を防ぐことができた⁴²⁾。細胞の形態を電子顕微鏡で観察すると細胞膜表面の形状の改善が確認された。

以上、UTHSCHのこれまでの研究は、食事のヌクレオチドが、宇宙飛行時の免疫力低下を抑制する可能性を示したものである。このような結果は、免疫力の低下した高齢者や術後においてもヌクレオチドの利用が有効であることを示唆するものである。

文 献

- 1) Elia, M., Lunn, P.G.: The use of glutamine in the treatment of gastrointestinal disorders in man. *Nutrition*, 13 : 743 ,1997
- 2) Fox, A.D., Kripke, S.A., Paula, D.J., *et al.* : Effect of glutamine-supplemented enteral diet on methotrexate-induced enterocolitis. *JPEN*, 12 : 325 ,1988
- 3) Fujita, T., Sakurai, K.: Efficacy of glutamine-enriched enteral nutrition in an experimental model of ulcerative colitis. *Br. J. Surg.*, 82 : 749 ,1995
- 4) Suzuki, I., Matsumoto, Y., Adjei, A.A., *et al.* : Effect of glutamine-supplemented diet on response to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 34 : 405 ,1993
- 5) Stechmiller, J.K., Tremor, D., Allen, N.: Gut dysfunction in critically ill patients; a review of the literature. *Am. J. Crit. Care* 6 : 204 ,1997
- 6) Barbul, A.: Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications. *JPEN*, 10 : 227 ,1986
- 7) Barbul, A.: Arginine and immune function. *Nutrition* 6 : 53 ,1990
- 8) Newsholme, E.A., Calder, P.C.: The proposed role of glutamine in some cells of the immune system and

- speculative consequences for the whole animal. *Nutrition*, 13 : 728 ,1997
- 9) Billings, M.P., Evans, J., Calder, P.C., *et al.* : Dose glutamine contribute to immunosuppression after major burns? *Lancet*, 336 : 523 ,1990
 - 10) Austgen, T.R., Chakrabarti, R., Chen, M.K., *et al.* : Adaptive regulation in skeletal muscle glutamine metabolism in endotoxin-treated rats. *J. Trauma*, 32 : 600 ,1992
 - 11) Ziegler, T.R., Young, L.S., Benfell, K., *et al.* : Clinical and metabolic efficacy of glutamine-supplemented parenteral nutrition after bone marrow transplantation. *Ann. Int. Med.*, 116 : 821 ,1992
 - 12) Reynolds, J.V., Daly, J.M., Zhang, S., *et al.* : Immunomodulatory mechanisms of arginine. *Surgery*, 104 : 142 ,1988
 - 13) Matsumoto, Y., Adjei, A.A., Takamine, F., *et al.* : Beneficial effects of dietary arginine supplementation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infected mice. *Nutr. Research*, 13 : 1445-1451 ,1993
 - 14) Saito, H., Trocki, O., Wang, S.L., *et al.* : Metabolic and immune effects of dietary arginine supplementation after burn. *Arch. Surg.*, 122 : 784 ,1987
 - 15) He, Y., Chu, S.W., Walker, A. : Nucleotide supplements alter proliferation and differentiation of cultured human (Caco-2) and rat (IEC-6) intestinal epithelial cells. *J. Nutr.*, 123 : 1017-1027 ,1993
 - 16) Uauy, R., Quan, R., Gil, A. : Role of nucleotides in intestinal development and repair : implications for infant nutrition. *J. Nutr.*, 124 : 1436s ,1994
 - 17) Adjei, A.A., Yamauchi, K., Chan, Y.C., *et al.* : Comparative effect of dietary nucleoside-nucleotide mixture and its components on endotoxin induced bacterial translocation and small intestinal injury in protein deficient mice. *Gut*, 38 : 531 ,1996
 - 18) Adjei, A.A., Yamamoto, S. : A dietary nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in mice fed protein-free diet. *J. Nutr.*, 125 : 42 ,1995
 - 19) Yamauchi, K., Adjei, A.A., Ameho, C.K., *et al.* : Nucleoside-nucleotide mixture increases bone marrow cell number and small intestinal RNA content in protein-deficient mice after an acute bacterial infection. *Nutrition*, 14 : 270 ,1998
 - 20) Szondy, Z., Newsholme, E.A. : The effect of various concentrations of nucleosides or glutamine on incorporation of [³H]thymidine into DNA in rat mesenteric-lymphnode lymphocytes stimulated by phytohemagglutinin. *Biochem. J.*, 270 : 437 ,1990
 - 21) Adjei, A.A., Yamamoto, S., Kulkarni, A.D. : Nucleic acid and/or their components : A possible role in immune function. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 41 : 1 , 1995
 - 22) Kulkarni, A.D., Rudolph, F.B., Van Buren, C.T. : The role of dietary sources of nucleotides in immune function : A review. *J. Nutr.*, 124 : 1442S ,1994
 - 23) Adjei, A.A., Takamine, F., Yokoyama, H., *et al.* : The effects of oral RNA and intraperitoneal nucleoside-nucleotide administration on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice. *JPEN*, 17 : 148 ,1993
 - 24) Fanslow, W.C., Kulkarni, A.D., Van Buren, C.T., *et al.* : Effect of nucleotide restriction and supplementation on resistance to experimental murine candidiasis. *JPEN*, 12 : 49 ,1988
 - 25) Adjei, A.A., Morioka, T., Ameho, C.K., *et al.* : Nucleoside-nucleotide free diet protects rat colonic mucosa from damage induced by trinitrobenzene sulphonic acid. *Gut*, 39 : 428 ,1996
 - 26) Neilly, P. J. D., Kirk, S., Gardiner, K.R., *et al.* : Manipulation of the L-arginine-nitric oxide pathway in experimental colitis. *Br. J. Surg.*, 82 : 1188 ,1995
 - 27) Shinozaki, M., Saito, H., Muto, T. : Excess glutamine exacerbates trinitrobenzenesulfonic acid-induced colitis in rats. *Dis. Colon. Rectum*, 40 (Suppl) : S59 ,1997
 - 28) Blakley, R. : Nucleotide. *In* : *Biochemistry* (Zubay, G. L., eds), 4th ed. : Wm C. Brown Publishers, Chicago , 1998 ,pp 626
 - 29) Yamauchi, K., Komatsu, T., Kulkarni, A.D., *et al.* : Glutamine and arginine affect Caco-2 cell proliferation by promotion of nucleotide synthesis. *Nutrition*, 18 : 329-333 ,2002
 - 30) Adjei, A.A., Yamamoto, S., Kulkarni, A.D. : Nucleic acids and/or their components : a possible role in immune function. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 41 : 1 ,1995
 - 31) Yamamoto, S., Adjei, A.A. : Nucleic acids and their components : a requirement for cellular development and function. *Ryukyu Med. J.*, 15 : 13 ,1995
 - 32) Adjei, A.A., Takamine, F., Yokoyama, H., *et al.* : Effect

- of intraperitoneal administered nucleoside-nucleotide mixture on the recovery from methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain 8985N infection in mice. J. Nutr. Sci. Vitaminol., 38 : 221 ,1992
- 33) Adjei, A.A., Matsumoto, Y., Kina, T., *et al.* : Protection of BALB/c mice against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection by intraperitoneal administration of nucleoside-nucleotide mixture. Tohoku J. Exp. Med., 169 : 179 ,1993
- 34) Adjei, A.A., Matsumoto, Y., Yamauchi, K., *et al.* : Efficacy of nucleoside-nucleotide mixture against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in mice treated with cyclophosphamide. Nutr. Res., 15 : 381 ,1995
- 35) Yamauchi, K., Adjei, A.A., Ameho, C.K., *et al.* : A nucleoside-nucleotide mixture and its components increase lymphoproliferative and delayed hypersensitivity responses in mice. J. Nutr., 126 : 1571 ,1996
- 36) Matsumoto, Y., Adjei, A.A., Yamauchi, K., *et al.* : A mixture of nucleosides and nucleotides increases bone marrow cell and peripheral neutrophil number in mice infected with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Nutr., 125 : 817 ,1995
- 37) Matsumoto, Y., Adjei, A.A., Yamauchi, K., *et al.* : Nucleoside-nucleotide mixture increases peripheral neutrophils in cyclophosphamide induced neutropenic mice. Nutrition ,11 : 296 ,1995
- 38) Adjei, A.A., Yamamoto, S. : A dietary nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in mice fed protein-deficient diet. J. Nutr., 125 : 42 , 1995
- 39) Adjei, A.A., Ohshiro, Y., Yamauchi, K., *et al.* : Intraperitoneal administration of nucleoside-nucleotide mixture inhibits endotoxin-induced bacterial translocation in mice fed protein-deficient diet. Tohoku J. Exp. Med., 174 : 1 ,1994
- 40) Kulkarni, A.D., Yamauchi, K., Hales, N.W., Ramesh, G.T., *et al.* : Nutrition beyond nutrition : plausibility of immunotropic nutrition for space travel. Clin. Nutr., 21 : 231 238 ,2002
- 41) Yamauchi, K., Hales, N. W., Robinson, S.M., Niehoff, M.L., *et al.* : "Dietary nucleotides prevent decrease in cellular immunity in ground-based microgravity analog." J. Appl. Physiol., 93 : 161 166 ,2002
- 42) Hales, N.W., Yamauchi, K., Alicea, A., Sundaresan, A., *et al.* : "A countermeasure to ameliorate immune dysfunction in *in vitro* simulated microgravity environment : role of cellular nucleotide nutrition," *In Vitro Cell. Dev. Biol. Animal.*, 38 : 213 217 ,2002

Maintenance of immunity by nutrition in space

*Shigeru Yamamoto¹⁾, Anil D Kulkarni²⁾, Keiko Yamauchi²⁾, Alamelu Sundaresan³⁾ and
Atsuko Fujiwara¹⁾*

¹⁾ *Applied Nutrition, Department of Nutrition, The University of Tokushima School of Medicine, Tokushima, Japan*

²⁾ *Department of Surgery, University of Texas Health Science Center at Houston, Houston, TX. USA*

³⁾ *NASA/Universities Space Research Association, Johnson Space Center, Houston, TX. USA*

SUMMARY

Immunity decreases in the microgravity condition. For the prevention of infection in the space constant use of antibiotics is not recommended. There are some foods and nutrients which are reported to enhance immunity. Their benefit in space is desirable. Glutamine and arginine have various physiological functions. We have seen that these two amino acids promote the resistance against pathogenic bacterial infection by increasing immunity and the recovery of intestinal tissues from damage by endotoxin.

We have also shown that nucleotides have similar effects as the two amino acids at much smaller quantities. Nucleotides are more stable and palatable than these amino acids.

In this paper, we described ; 1) the comparison of physiological functions of glutamine, arginine and nucleotides, 2) the role of nucleotides on the immunity and 3) the usefulness of nucleotides to maintain immunity in microgravity environment.

Key words : space, immunity, nutrition, nucleotides, glutamine, arginine